

# De slangenschimmel *Ophidiomyces ophidiicola* bij ringslangen in Nederland

Tariq Stark, Wouter Beukema, Maarten Gilbert, Edo Goverse, Annemariëke Spitzen-van der Sluijs, Richard P.J.H. Struijk, Elin Verbrugghe, Frank Pasmans & An Martel

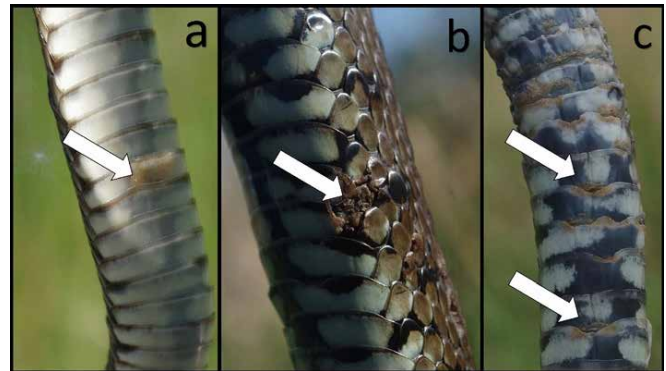
De schimmel *Ophidiomyces ophidiicola* veroorzaakt de huidziekte ophidiomycose bij slangen. De aandoening is ook wel bekend als 'Snake Fungal Disease' (SFD). Na de ontdekking in Noord-Amerika, Azië en enkele Europese landen, leek het een kwestie van tijd voordat deze schimmel ook in Nederland zou worden aangetroffen. Gericht onderzoek bracht *Ophidiomyces ophidiicola* inderdaad onlangs aan het licht.

De schimmel *O. ophidiicola* is uitsluitend bij slangen aangetroffen. Geïnfekteerde dieren kunnen uiteenlopende symptomen vertonen. Relatief milde symptomen zijn onder andere kleine, soms met het blote oog onzichtbare, huidbeschadigingen, korsten en zweren. Ernstige symptomen uiten zich als problemen met de vervelling, en motorische stoornissen, waaronder een gebrek aan de zogenaamde 'oprichtreflex'. Infectie beïnvloedt het foerageer- en thermo-regulatiegedrag, maar belemmert ook het ontwijken van roofdieren (Allender *et al.*, 2015a). Dit kan op zijn beurt leiden tot een vermindering van de algehele conditie, wat het voortplantings-succes kan beïnvloeden en het risico op predatie bij individuele slangen verhoogt (Lorch *et al.*, 2015a).

## Voorkomen en varianten

Op dit moment is *O. ophidiicola* bekend uit Noord-Amerika, Europa en Azië bij 62 wilde slangensoorten, bij (wildvang)exemplaren in de handel en bij verschillende terrariumhouders (Ladner *et al.*, 2022). Het meeste onderzoek heeft zich in het verleden gericht op Noord-Amerika, vanwege de initiële ontdekking van de schimmel op dit continent, het veelvuldig voorkomen bij bepaalde slangensoorten en een populatieafname bij verschillende soorten in aanwezigheid van ophidiomycose (Allender *et al.*, 2018). Tot op heden zijn er drie verschillende varianten van *O. ophidiicola* beschreven. Variant I is alleen aangetroffen bij in het wild levende slangen in Europa. Variant II is gerapporteerd bij wilde slangen in Noord-Amerika, Taiwan en dieren in gevangenschap wereldwijd. Variant III is tot nu toe alleen gevonden bij twee in het wild levende slangensoorten in Taiwan en bij dieren in gevangenschap (Sun *et al.*, 2021; Ladner *et al.*, 2022). Recente studies tonen aan dat variant I en II sinds ten minste 1959 voorkomen in Europa (Oraggi *et al.*, 2022). Variant II is mogelijk ziekmakender dan variant I vanwege hogere groeisnelheden (Franklinos *et al.*, 2017).

Moleculaire datering suggereert dat variant I en II ongeveer 2000 jaar geleden uit elkaar zijn gegaan. De aanwezigheid van variant II in Noord-Amerika en *O. ophidiicola* in zijn algemeenheid, kan het resultaat zijn van verschillende recente introducties, gevolgd door verdere verspreiding (Ladner *et al.*, 2022). Door de aanwezigheid van variant II in veel terrariumcollecties is introductie in wilde populaties een risico. Dit laatste heeft mogelijk plaatsgevonden in Noord-Amerika. Er bestaan vermoedens dat kruisingen tussen schimmelvarianten hybriden kunnen voortbrengen die meer



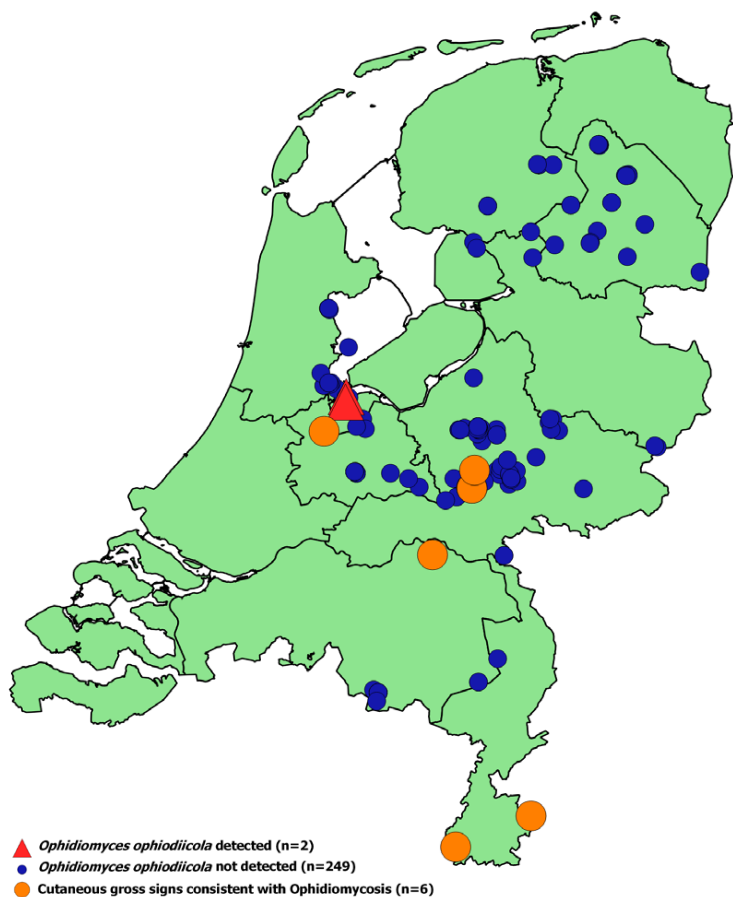
Figuur 1. Ringslang die besmet is met de slangenschimmel *O. ophidiicola*. (Foto: Steven Allain)

ziektereverwekkend zijn (Ladner *et al.*, 2022). Het is voornamelijk onduidelijk waar de schimmel oorspronkelijk vandaan komt, maar er zijn aanwijzingen dat dit Azië betreft.

## *O. ophidiicola* in Europa

Tot voor kort was de kennis over de aanwezigheid en verspreiding van *O. ophidiicola* bij wilde slangensoorten in Europa beperkt. De eerste meldingen komen uit 2010 (Franklinos *et al.*, 2017). Dit betrof het Verenigd Koninkrijk en Tsjechië, later gevolgd door Zwitserland, Italië en Duitsland. Recentelijk is de schimmel ook vastgesteld in Polen, Slowakije en Spanje. In een recente studie waarin een geactualiseerd verspreidingsoverzicht van de schimmel in continentaal Europa wordt gepresenteerd, is het bekende voorkomen van *O. ophidiicola* aanzienlijk uitgebreid (Blanvillain *et al.*, 2022). Voorlopige schimmel-hotspots werden geïdentificeerd in Zwitserland (en aangrenzend Frankrijk en Italië) (26,7% van de onderzochte slangensoorten besmet), Duitsland (resp. 12,5%) en Oekraïne (resp. 12,1%). Hoge prevalenties (besmettingsgraden) worden gevonden bij slangensoorten met een voorkeur voor vochtige habitats, zoals de dobbelsteenslang (*Natrix tessellata*), ringslang (*Natrix helvetica*), oostelijke ringslang (*Natrix natrix*) en esculaapslang (*Zamenis longissimus*). Zowel variant I als II zijn vastgesteld in Europa. Europese *O. ophidiicola* hotspots, waaronder populaties met ernstig aangetaste individuen, zouden kunnen ontstaan door de aanwezigheid van bepaalde variant(en), aanwezigheid van zeer vatbare slangensoorten of een combinatie van beide (Blanvillain *et al.*, 2022). Waarnemingen van *O. ophidiicola* bij in





**Figuur 2. Kaart van Nederland waarop te zien is waar monsters zijn verzameld om de aanwezigheid van de *Ophiomyces ophioidicola* te beoordelen. (Bron: Tariq Stark, RAVON)**

het wild levende slangen uit continentaal West-Europa zijn schaars, ondanks de aanwezigheid van vatbare gastheersoorten zoals *N. helvetica* en *N. natrix* (Blanvillain *et al.*, 2022). Zelfs met een goed functionerend Early Warning System in Nederland, bleven positieve monsters afwezig. Dit is de eerste melding van *O. ophioidicola* via twee positieve monsters van twee ringslangen in Nederland.

#### Methode

De monsters zijn op drie verschillende manieren verkregen. RAVON-waarnemers is gevraagd om slangen met verdachte symptomen te melden en om vervellingen en kadavers van zowel inheemse als geïntroduceerde (exotische) in het wild levende slangen te verzamelen. Deze oproep is via (sociale) mediacampagnes, radio en TV ook naar een breder publiek verstuurd. Daarnaast verzamelden RAVON-medewerkers monsters tijdens regulier veldwerk. Meer gerichte acties zijn door RAVON-medewerkers ondernomen wanneer een van ophiomycose verdachte dode of zieke slang werd gemeld. In de zo verkregen dataset zijn verschillende in het wild levende soorten opgenomen.

Geïntroduceerde stierslangen (*Pituophis* sp.) zijn op diverse locaties in de Zuid-Hollandse kustduinen bemonsterd. Vervellingen, karkassen en huidswabs zijn ingevroren bewaard bij -23°C. Verdere details over de analysemethodiek zijn te vinden in Stark *et al.* (2024).

#### Resultaten

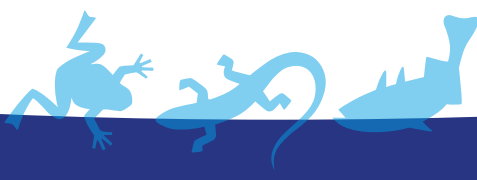
Tussen 2017 en 2023 zijn in totaal 301 monsters gescreend op de aanwezigheid van *O. ophioidicola*. Deze waren afkomstig van 241 wilde slangen, 33 individuen in gevangenschap en 10 geïntroduceerde (in het wild levende) slangen in Nederland (figuur 2, tabel 1). In totaal ging het om 22 soorten, uit 17 geslachten. Ringslangen (*N. helvetica*) waren goed vertegenwoordigd in de dataset (44,4%), gevolgd door adders (22,5%) en gladde slangen (18,0%). De rest betrof individuen van verschillende soorten in gevangenschap (11,6%) en geïntroduceerde *Natrix helvetica* (1%) en *Pituophis* sp. (2,5%). Van de 301 monsters waren er 231 afkomstig van vervellingen (76,8%), 54 van karkassen (17,9%) en 16 van huidswabs (5,3%). Drie ringslangen, één geïntroduceerde ringslang en twee gladde slangen vertoonden symptomen die op het eerste oog lijken op een ophiomycose-infectie (figuren 1 en 3, tabel 1). *O. ophioidicola* is echter niet gedetecteerd bij deze individuen.

*O. ophioidicola* is wel vastgesteld in twee vervellingen van in het wild levende ringslangen. Beide vervellingen zijn gevonden in 2019 (tabel 1). Eén vervellingshuid was van een adult en één van een subadult (respectievelijk gevonden op 10 en 18 september 2019). Beide vervellingen komen uit het Naardermeer. De vervellingen vertoonden geen voor ophiomycose kenmerkende afwijkingen. De schimmel is niet aangetroffen op twee vervellingen van ringslangen die in juni en juli van datzelfde jaar in hetzelfde gebied zijn gevonden.

#### Discussie

De ontdekking van *O. ophioidicola* in Europa kwam vrij laat, in vergelijking met Noord-Amerika. Dit kan het gevolg zijn van verschillende factoren, waaronder de nog steeds relatief beperkte kennis over de schimmel onder ecologen, natuurvrijwilligers en het grote publiek. Hierdoor kunnen infecties onopgemerkt blijven. Sinds de ontdekking van *O. ophioidicola* in Europa is de kennis over de aanwezigheid van de schimmel, inclusief de verschillende varianten, maar ook het gastheerspectrum, aanzienlijk toegenomen. Er is nog veel onduidelijk over de impact van de ziekteverwekker op Europese slangenpopulaties (Di Nicola *et al.*, 2022; Origgi *et al.*, 2022). De gevolgen van de ziekte kan afhankelijk zijn van de betrokken varianten (en mogelijke hybridisering van die varianten), co-infecties met verschillende *O. ophioidicola* varianten, de vatbaarheid van gastheren, herhaalde blootstelling aan de ziekteverwekker, in combinatie met omgevingsfactoren (Allain *et al.*, 2024). Er zijn gevallen van ernstige infecties bekend uit Zwitserland en Italië, waar variant I en II voorkomen in gevoelige gastheerpopulaties (*Natrix* sp.), terwijl de ziekte mogelijk minder ernstig verloopt als er slechts één variant (I) bij betrokken is (Allain *et al.*, 2024). Gevoelige gastheren zoals ringslang, geïntroduceerde oostelijke ringslang en in mindere mate adder zijn aanwezig in Nederland. Tijdens dit onderzoek zijn slangen gevonden met symptomen die lijken op ophiomycose. Ondanks de aanwezigheid van duidelijke huidbeschadigingen is de schimmel niet op deze individuen gevonden (figuur 3, tabel 1). Andere pathogenen die huidziekten kunnen veroorzaken bij slangen, zoals *Paranannizziopsis*-schimmels, kunnen niet worden uitgesloten als veroorzakers van deze ophiomycose-achtige symptomen (Lorch *et al.*, 2023).

De ringslangvervellingen die positief testten op de aanwezigheid van *O. ophioidicola*, vertoonden geen tekenen van infectie (tabel 1).



Tabel 1. Een overzicht van slangen (n=284) die tussen 2017-2023 zijn gescreend op de aanwezigheid van *Ophidiomyces ophidiicola*. De positieve monsters zijn vetgedrukt weergegeven en verwijzen naar twee wilde *N. helvetica* die beide in september 2019 zijn gevonden.

Soort	Aantal individuen	Aantal monsters	Vervelling: karkas: swab	Adult: subadult : juveniel	Symptomatische individuen	Wild: Gevangenschap: Geïntroduceerd	Oo postief (qPCR)
<i>Agkistrodon bilineatus</i>	1	1	1:00:00	1:00:00	0	0:01:00	0
<i>Aspidelaps cowlesi</i>	3	3	3:00:00	3:00:00	0	0:03:00	0
<i>Aspidelaps lubricus</i>	1	1	1:00:00	1:00:00	0	0:01:00	0
<i>Boa constrictor occidentalis</i>	2	2	2:00:00	2:00:00	0	0:02:00	0
<i>Coelognathus helena</i>	2	2	2:00:00	2:00:00	0	0:02:00	0
<i>Coronella austriaca</i>	52	53	22:28:03	18:14:20	2	51:01:00	0
<i>Daboia palaestinae</i>	1	1	1:00:00	1:00:00	0	0:01:00	0
<i>Eryx colubrinus loveridgei</i>	1	1	1:00:00	1:00:00	0	0:01:00	0
<i>Lampropeltis triangulum</i>	2	7	7:00:00	2:00:00	0	0:02:00	0
<i>Macrovipera lebetinus schweizeri</i>	1	1	1:00:00	1:00:00	0	0:01:00	0
<i>Montivipera raddei kurdistanica</i>	1	1	1:00:00	1:00:00	0	0:01:00	0
<i>Natrix helvetica</i>	130	138	115:17:06	84:34:12	4	126:01:03	2
<i>Natrix maura</i>	5	7	2:05:00	0:05:00	0	0:05:00	0
<i>Natrix natrix</i>	1	1	1:00:00	1:00:00	0	0:01:00	0
<i>Naja haje</i>	2	2	2:00:00	2:00:00	0	0:02:00	0
<i>Naja nigricincta</i>	2	2	2:00:00	2:00:00	0	0:02:00	0
<i>Naja nubiae</i>	2	2	2:00:00	0:02:00	0	0:02:00	0
<i>Pantherophis guttatus</i>	1	1	1:00:00	1:00:00	0	0:01:00	0
<i>Pituophis sp.</i>	7	8	1:00:07	7:00:00	0	0:00:07	0
<i>Pseudechis colletti</i>	1	1	1:00:00	1:00:00	0	0:01:00	0
<i>Craspedocephalus trigonocephalus</i>	1	1	1:00:00	0:01:00	0	0:01:00	0
<i>Vipera berus</i>	65	65	61:04:00	58:07:00	0	64:01:00	0

Het ontbreken van duidelijke tekenen van infectie bij deze specifieke gastheren, kan worden toegeschreven aan een vroeg stadium van infectie (Di Nicola *et al.*, 2022). De weefselbeschadigingen kunnen ook erg klein zijn en gemakkelijk gemist worden op vervellingen, zoals aangetoond in een studie van Franklinos *et al.* (2017).

De Naardermeer-populatie, waar *O. ophidiicola* werd gedetecteerd, maakt deel uit van het NEM Meetprogramma Reptielen. Er is geen duidelijke afname van de populatie vastgesteld op dit traject. Op nationaal niveau wordt de trend sinds het begin van de tellingen als stabiel beoordeeld. Echter, over de afgelopen 12 jaar laat de trend een matige afname zien. Het is onduidelijk of de aanwezigheid van *O. ophidiicola* hierbij een rol speelt.

In deze studie bleek de inzet van 'citizen science' cruciaal voor het verzamelen van monsters om deze zeer cryptische schimmel te ontdekken. Het betrekken van het brede publiek wordt ook internationaal steeds meer als zeer zinvol onderkend, zowel in Early Warning als bij het naleven van hygiëneprotocollen (Lawson *et al.*, 2015). Toekomstig onderzoek is van groot belang om beter zicht te krijgen op de impact van deze schimmel in Nederland.

#### Vervolgonderzoek

De huidige verspreiding in Noord-Holland en aangrenzend Utrecht, maar ook de mate van voorkomen van de schimmel in de Naardermeer-populatie, is nog niet bekend. Dit is essentiële informatie om te achterhalen in welk epidemiologisch stadium de infectie zich bevindt, wat noodzakelijk is om mogelijke vervolgstappen te formuleren. Ook wordt getracht te bepalen welke

varianten in Nederland aanwezig zijn. In 2024 is er een onderzoek van start gegaan om op deze vragen antwoorden te krijgen. Meldingen blijven van harte welkom!

#### Dankwoord

Dit onderzoek is uitgevoerd onder vergunning FF/75A/2016/015. Natuurmonumenten en Staatsbosbeheer worden bedankt voor het verlenen van terreinonthefingen. Alle betrokken waarnemers worden bedankt voor hun onmisbare bijdrage aan dit onderzoek. Peter Schilperoord en Richard de Jong worden bedankt voor monsters van slangen in gevangenschap. RAVON-collega's Arnold van Rijsewijk, Jesper Berndsens, Raymond Creemers, Jelger Herder, Jöran Janse en Ronald Laan worden bedankt voor hun bijdragen aan het onderzoek. Het Ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit, de Van der Hucht de Beukelaar Stichting, de European Snake Society en Stichting Herpetofauna worden bedankt voor hun financiële steun aan deze studie.

#### Summary

##### First report of *Ophidiomyces ophidiicola* in wild barred grass snakes (*Natrix helvetica*) in the Netherlands

*Ophidiomyces ophidiicola* is the causative agent of ophidiomycosis (also called snake fungal disease) and has been associated with mycosis in individual snakes and population declines in several North American snake species. While cases of ophidiomycosis from North America have been numerous in the past two decades, reports from Europe remain sparse and are lacking from the Benelux. Between 2017 and 2023,





**Figuur 3. Een ringslang (*Natrix helvetica*) met tekenen van vermoedelijke ophidiomyose. De ziekteverwekker werd niet gedetecteerd bij individuen met dergelijke symptomen. (Foto's: Richard Struijk en Tariq Stark).**

sloughed skins, carcasses and swabs from 284 free-ranging, captive and introduced snakes belonging to 22 species were screened for the presence of *O. ophidiicola* in the Netherlands. Two free-ranging barred grass snakes (*Natrix helvetica*) shed skin sloughs tested positive despite a lack of gross cutaneous signs of disease. These findings are presented in this article. To the authors' knowledge, this is the first report of the presence of *O. ophidiicola* in the Netherlands.

#### Literatuur

- Allain, S.J., D.I. Leech, K. Hopkins, K. Seilern-Moy, J. Rodriguez-Ramos Fernandez, R.A. Griffiths & B. Lawson, 2024. Characterisation, prevalence and severity of skin lesions caused by ophidiomycosis in a population of wild snakes. *Scientific Reports* 14(1): 5162.
- Allender, M.C., S. Baker, D. Wylie, D. Loper, M.J. Dreslik, C.A. Phillips, C. Maddox & E.A. Driskell, 2015a. Development of snake fungal disease after experimental challenge with *Ophidiomyces ophidiicola* in cottonmouths (*Agkistrodon piscivorus*). *PLoS One* 10(10): 1-13.
- Allender, M.C., S. Baker, M. Britton & A.D. Kent, 2018. Snake fungal disease alters skin bacterial and fungal diversity in an endangered rattlesnake. *Scientific Reports* 8: 1-9.
- Asztalos, M., B. Wielstra, R.P.J.H. Struijk, D. Ayaz & U. Fritz, 2021. Aliens in the Netherlands: Local genetic pollution of barred grass snakes (Squamata: Serpentes: Natricidae). *Salamandra* 57(1): 1741-79.
- Blanvillain, G., J.M. Lorch, N. Joudrier, S. Bury, T. Cuenot, M. Franzen, F. Martínez-Freiria, G. Guiller, B. Halpern, A. Kolanek, K. Kurek, O. Lourdais, A. Michon, R. Musilová, S. Schweiger, B. Szulc, S. Ursenbacher, O. Zinenko & J.R. Hoyt, 2022. Hotspots for snake fungal disease across Europe are maintained by host and pathogen identity. *BioRxiv* 11.
- Baker, S.J., E. Haynes, M. Gramhofer, K. Stanford, S. Bailey, M. Christman, K. Conley, S. Frasca, R.J. Ossiboff, D. Lobato & M.C. Allender, 2019. Case definition and diagnostic testing for snake fungal disease. *Herpetological Review* 50(2): 279-285.
- Di Nicola, M.R., L. Coppari, T. Notomista & D. Marini, 2022. *Ophidiomyces ophidiicola* detection and infection: a global review on a potential threat to the world's snake populations. *European Journal of Wildlife Research* 68(5): 64.
- Franklinos, L.H., J.M. Lorch, E. Bohuski, J. Rodriguez-Ramos Fernandez, O.N. Wright, L. Fitzpatrick,

S. Petrovan, C. Durrant, C. Linton, B. Baláz, A.A. Cunningham & B. Lawson, 2017. Emerging fungal pathogen *Ophidiomyces ophidiicola* in wild European snakes. *Scientific Reports* 7(1): 1-7.

Ladner, J.T., J.M. Palmer, C.L. Ettinger, J.E. Stajich, T.M. Farrell, B.M. Glorioso, B. Lawson, S.J. Price, A.G. Stengele, D.A. Grear & J.M. Lorch, 2022. The population genetics of the causative agent of snake fungal disease indicate recent introductions to the USA. *PLoS Biology* 20(6): 1-24.

Lawson, B., S.O. Petrovan & A.A. Cunningham, 2015. Citizen science and wildlife disease surveillance. *EcoHealth* 12, 693-702.

Lorch, J.M., M.E. Winzeler, J.S. Lankton, S. Raverty, H.N. Snyman, H. Schwantje, C. Thacker, S. Knowles, H.Y. Cai, & D.A. Grear, 2023. *Paranannizziopsis* spp. associated with skin lesions in wild snakes in North America and development of a real-time PCR assay for rapid detection of the fungus in clinical samples. *bioRxiv*, 2023-07.

Origg, F.C., S.R. Pisano, O. Glaizot, S.T. Hertwig, A. Schmitz & S. Ursenbacher, 2022. *Ophidiomyces ophidiicola*, etiologic agent of snake fungal disease, in Europe since late 1950s. *Emerging Infectious Diseases* 28(10): 2064-2068.

Stark, T., W. Beukema, M. Gilbert, E. Goverse, A. Spitzen-van der Sluijs, R. Struijk, E. Verbrugghe, F. Pasmans & A. Martel, 2024. Detection of *Ophidiomyces ophidiicola* in wild barred grass snakes (*Natrix helvetica*) in the Netherlands. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 93(2): 79-84.

Sun, P.L., C.K. Yang, W.T. Li, W.Y. Lai, Y.C. Fan, H.C. Huang & P.H. Yu, 2022. Infection with *Nannizziopsis guarroi* and *Ophidiomyces ophidiicola* in reptiles in Taiwan. *Transboundary and Emerging Diseases*, 69(2): 764-775.

**Tariq Stark, Wouter Beukema, Maarten Gilbert, Edo Goverse, Annemarieke Spitzen-van der Sluijs & Richard P.J.H. Struijk**  
RAVON, t.stark@ravon.nl

**An Martel, Frank Pasmans & Elin Verbrugghe**  
Universiteit Gent. Faculteit Diergeneeskunde. Vakgroep Pathologie, Bacteriologie en Pluimveeziekten

